

Study on the Effect of Mechanical Damage on Photosynthesis and Phenolic Substances in *Eucommia ulmoides* Oliver

Yun Guo, Xiorui Guo, Baokun Cai, Zhouhua Tang*

College of Chemistry, Chemical Engineering and Resource Utilization, Northeast Forestry University, Harbin Heilongjiang
Email: guoyun0gy@163.com, *tangzh@nefu.edu.cn

Received: Mar. 15th, 2020; accepted: Mar. 31st, 2020; published: Apr. 7th, 2020

Abstract

In order to explore the effects of different degrees of mechanical damage on photosynthesis of tea leaves of *Eucommia ulmoides* Oliver, and the response of tea *E. ulmoides* phenolic compounds to mechanical damage, the 5-year-old *E. ulmoides* plant was used as the mechanical damage test material, and the potted plant was used to make the mechanical damage test. After three days of treatment, the effect of mechanical damage on the photosynthetic characteristics of different parts of *E. ulmoides* was determined by Li-6400 portable photosynthetic apparatus. The control mode of mechanical damage to phenolic compounds was determined by LC-MS. The results showed that mild mechanical damage did not affect the normal photosynthetic physiological function of *E. ulmoides* plants; severe mechanical damage reduced the photosynthetic parameters of *E. ulmoides* leaves. Mechanical damage treatment caused a total of 21 phenolic compounds in different tissues of *E. ulmoides*. Among them, chlorogenic acid and rutin were specifically accumulated in the leaves, which may be an important defense material for mechanical damage of *E. ulmoides*. Chlorogenic acid is one of the main active constituents of *E. ulmoides*. The above results indicate that mechanical damage induces the response of *E. ulmoides* stress defense system, promotes the accumulation of phenolic substances to improve the resistance, and regulates the increase of active components such as chlorogenic acid in leaves, providing scientific and reasonable theoretical basis for the health effects and excellent cultivation techniques of *E. ulmoides* leaves.

Keywords

Eucommia ulmoides Oliver, Mechanical Damage, Chlorogenic Acid, Phenolic Substances

机械损伤对茶用杜仲光合作用以及酚类物质影响的研究

郭云, 郭晓瑞, 蔡宝坤, 唐中华*

*通讯作者。

文章引用: 郭云, 郭晓瑞, 蔡宝坤, 唐中华. 机械损伤对茶用杜仲光合作用以及酚类物质影响的研究[J]. 食品与营养科学, 2020, 9(2): 121-131. DOI: 10.12677/hjfn.2020.92016

东北林业大学, 森林植物生态学教育部重点实验室, 化学化工与资源利用学院, 黑龙江 哈尔滨
Email: guoyun0gy@163.com, tangzh@nefu.edu.cn

收稿日期: 2020年3月15日; 录用日期: 2020年3月31日; 发布日期: 2020年4月7日

摘要

为了探究不同程度机械损伤对茶用杜仲叶片光合作用的影响, 以及茶用杜仲酚类化合物对机械损伤的响应, 以5年生杜仲植株为机械损伤试验材料, 采用盆栽去顶端嫩芽做机械损伤试验, 在处理三天后利用Li-6400便携式光合测定仪测定机械损伤对杜仲植株不同部位叶片光合特性影响, 使用液质联用技术(LC-MS)测定机械损伤对其酚类化合物调控模式。结果表明: 轻度机械损伤不影响杜仲植株正常光合生理作用; 重度机械损伤使杜仲叶片光合参数有所降低。机械损伤处理共引起21种酚类化合物在杜仲的不同组织部位进行相应, 其中绿原酸、芦丁等8种在叶片中进行特异性积累, 可能是杜仲应激机械损伤的重要防御物质。绿原酸是杜仲主要活性成分之一, 上述结果表明机械损伤诱导杜仲应激防御系统响应, 促进酚类物质积累以提高抵抗能力, 调节了叶片中绿原酸等有效成分的增加, 为提高茶用杜仲叶片保健功效和优良栽培技术提供科学、合理的理论依据。

关键词

杜仲, 机械损伤, 绿原酸, 酚类物质

Copyright © 2020 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

杜仲(*Eucommia ulmoides* Oliver), 多年生落叶乔木, 又名胶木, 民间又称思仙、思仲、思锦树, 是杜仲科杜仲属植物, 为较特殊的单科单种属植物。杜仲在我国栽培历史悠久, 广泛分布于甘肃、湖北、四川、贵州、云南等地区, 属国家级珍稀濒危植物, 是我国特有的第三纪孑遗植物, 已被列为国家二级珍贵保护树种。杜仲也是我国特有的一种名贵滋补药材, 在我国有很长药用历史, 药用价值极高。历史上著名古代药用典籍《神农本草经》和《本草纲目》均将杜仲列为优等药材, 并有“滋养肾脏, 强化阳气。”的功效。叶子、茎、树皮, 甚至雄蕊花被用作药物疗法[1]。在中国, 这种植物的地上提取物已被广泛使用作为植物滋补品超过2000年。传统医学中杜仲以皮入药, 但取皮入药易导致杜仲树死亡, 不利于植物资源的可持续利用。杜仲叶资源十分丰富, 种植三年的杜仲树每棵年产叶量可达10~15公斤, 并且杜仲叶中的绿原酸含量丰富。经近年来研究发现, 杜仲叶有与杜仲皮相似的药用活性成分及药理功效[2]。对其化学成分、药理活性与临床应用的深入研究发现, 杜仲叶可以代替杜仲皮作为医疗保健之用。现代药理研究表明, 杜仲叶的疗效主要体现在抗疲劳、抗氧化、抗肿瘤、抗衰老方面, 同时在降血压、调节免疫、抗炎、助减肥这些方面也具有一定的作用[3], 甚至功效比杜仲皮更优[4]。杜仲叶的多种药理活性主要因为其含有丰富的化学成分, 包括黄酮类、酚类、苯丙素类、木质素类、环烯醚萜类以及特有的杜仲胶等, 其中苯丙素类、黄酮类等成分含量较高[5], 尤其绿原酸等多种酚类活性物质含量是皮中含量的数倍。通过杜仲叶毒理学评价以及查阅医药典籍资料 and 传统食用记载, 可发现杜仲叶属于无毒级、可作为“药食同源”中药材使用[6]。因此市场上以改善心脑血管功能等保健功效为主的杜仲茶产品大量发展[7]。

植物酚类化合物可分为三大类：C6-C1 型化合物具有 C6-C1 碳骨架，如羟基苯甲酸；C6-C3 型化合物具有 C6-C3 碳骨架，例如羟基肉桂酸；C6-C3-C6 型化合物具有 C6-C3-C6 碳骨架，例如类黄酮[8] [9]。例如，橄榄叶中富含酚类物质，包括简单的酚类，木脂素类，环烯醚萜类和黄酮类[10]。酚类物质被称为存在于植物膳食中的天然抗氧化剂，可以有效预防和干预糖尿病、心血管疾病、神经退行性疾病和癌症等氧化应激相关疾病，还能够保护机体减轻或免除由紫外线引起的氧化损伤[11] [12]。研究表明，富含橙皮素、柚皮素、槲皮素等酚类化合物的食品，具有保护肝脏、治疗肝损伤和减缓肝毒性的作用[13]。大量研究表明，酚类化合物合成依赖于非生物因素。

机械损伤属于非生物胁迫之一，是诱导植物产生防御的重要手段[14]。植物遭受机械损伤等非生物胁迫后，系统应激产生一系列次生代谢活性成分，如黄酮类、萜类、生物碱以及酚类等，积极响应伤害愈合反应以及阻止昆虫或病菌的入侵[15]。酚类物质在植物抗生物胁迫机制中起着至关重要的作用，是植物体内广泛分布的一类重要的次生代谢产物，其结构复杂，种类多样，游离态酚酸参与大量生理过程，如抗氧化、清除自由基、形成木质素等。酚类是植物体内通过苯丙烷酸代谢途径产生的一类重要物质，直接参与植物的防御系统反应[16]。诸多研究表明，植物受到损伤或动物采食后，能够激活植物的防御反应，诱导体内 PAL(苯丙氨酸解氨酶)和 PPO(多酚氧化酶)活性显著升高[17] [18]，合成并积累酚类化合物[19] [20]。机械损伤对茶树新梢的苯丙氨酸解氨酶活性和茶多酚含量有显著的影响[21]。在严善春等人的研究中，剪叶或昆虫取食的机械损伤方式均会诱导兴安落叶松针叶中绿原酸、香草酸等 10 种酚类物质的显著上调[20]。在杜仲栽培中杜仲平茬是一项重要的技术措施，不论是以采叶为主还是以取皮为主的杜仲，应用平茬技术均甚为重要[22]。平茬作为一种栽培和组织手段，也是一种形式的机械损伤。而平茬是否会影晌茶用杜仲叶品的药用功效质量还鲜有研究。我们以茶用杜仲为研究对象，以去除顶端嫩芽的机械损伤行为模拟日常栽培杜仲时的平茬措施，通过对杜仲叶品光合作用的测定确定机械损伤程度对杜仲生理作用的影响，通过对杜仲各组织部位酚类化合物的测定，初步探究机械损伤对茶用杜仲叶片质量的影响，以为茶用杜仲林的优良培育提供理论依据。

2. 材料和方法

2.1. 试验材料

LI-6400 型便携式光合仪(美国 LI-COR 公司)；高通量组织研磨器(浙江宁波新艺超声设备有限公司)；KQ-500DB 型数控超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司)。绿原酸、槲皮素、甘草素、香草酸、苯丙氨酸等标准品均购自 Sigma 公司，纯度≥98%。色谱级甲醇、乙腈购于北京百灵威化学有限公司。

2.2. 试验设计

试验于 2018 年 9 月 13 日-16 日在东北林业大学森林植物生态学教育部重点实验室实验园内进行，选取生长良好、无病虫害、株高一致的 5 年生杜仲 30 株，随机分为三组。以剪刀剪掉顶端第一对嫩叶为轻度机械损伤，以剪刀剪掉植株顶部三对嫩叶为重度机械损伤，以正常生长植物作为对照。以常规管理方法对处理期间的茶用杜仲进行培养，保证水分、养分供应。处理一周后，以株高为基础将植物叶片划分为上位叶、中位叶和下位叶，选取植株生长状况良好，及叶位一致的叶片，进行光合参数的测定，随后放入液氮中，每个处理均随机取样。

2.3. 试验方法

2.3.1. 光合参数的测定

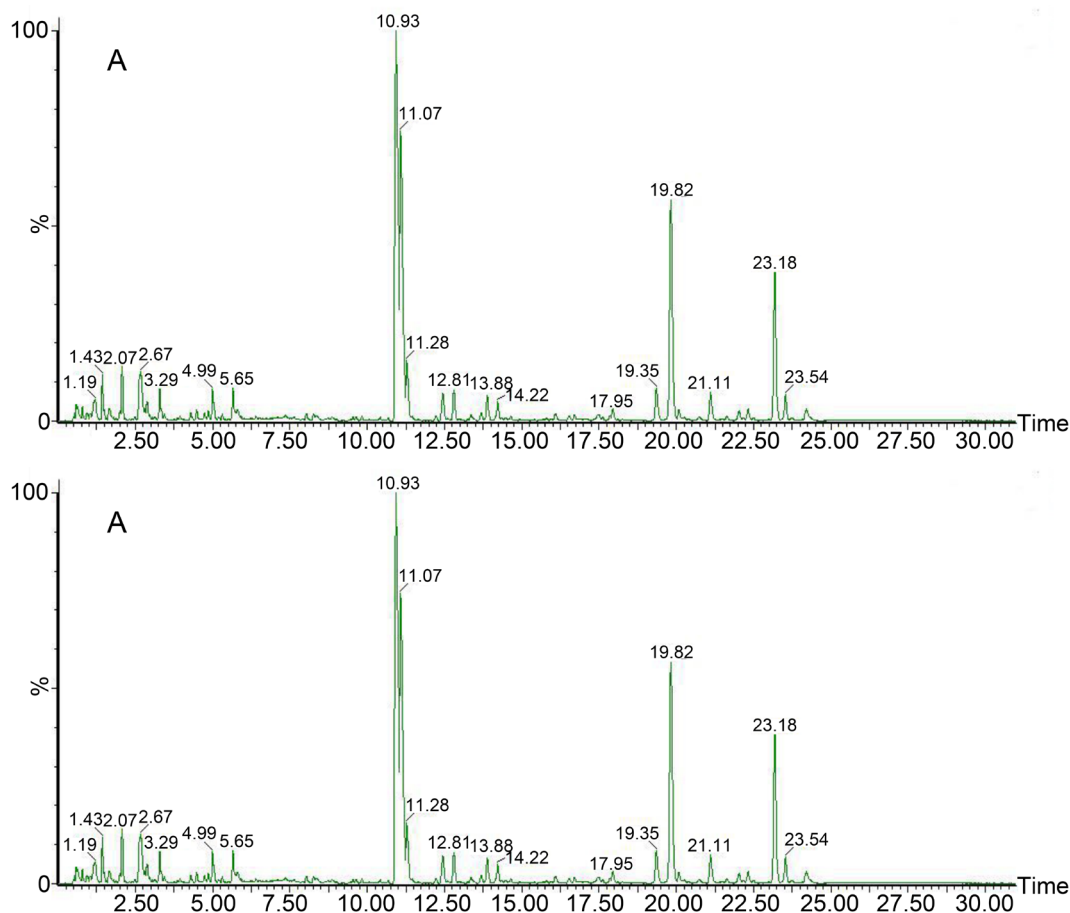
在试验植株处理第三天 11 点，使用 LI-6400 型便携式光合仪分别测定对照、轻度机械损伤和重度机

机械损伤三个处理上、中、下位叶的净光合速率(P_n)、气孔导度(G_s)、胞间 CO_2 浓度(C_i)、蒸腾速率(T_r)等基本光合参数, 每个处理重复测定 5 次, 取平均值。

2.3.2. 酚类化合物的提取和测定

将冷冻保存的样品于液氮中研磨成粉末并精密称取 1 g 至于离心管中, 加入体积为 10 mL 70%甲醇溶液, 在超声辅助下提取 45 min, 于 25℃ 以 8000 r/min 离心 10 min 后倒出提取液, 样品残渣再加入 10 mL 溶剂进行二次提取, 将两次提取液过滤后在真空并处于 40℃ 条件下浓缩至干。用 1 mL 色谱级甲醇对样品进行复溶, 8000 r/min 离心 10 min, 上清液保存于 -20℃ 备用, 0.45 μ m 的微孔滤膜过滤后, 样品进行色谱分析。

使用 UPLC-MS 系统进行主要效应化合物的测量, 该系统包含具有 LC-20AD 泵, 温度控制器和柱温箱的超高性能。通过电喷雾电离(ESI)界面(Waters G2, Milford, MA, USA) 的 UPLC-QTOF-Tandem 质谱仪用于分析靶向的 19 种酚类化合物。使用溶剂 A (0.04%甲酸 - 水)和溶剂 B (0.04%甲酸 - 乙腈)作为流动相, 对梯度洗脱组分进行分析。流速为 0.5 mL/min 的梯度洗脱如下进行: 0.0~20.0 分钟, 5-95%B; 20.0~22.1 分钟, 95-5%B; 22.1-28.0 min, 5%B。在正离子模式下获得全扫描数据, MS 条件设定如下: 扫描时间 1.0 s, 质量范围 50 至 1000 m/z, 碎裂电压 105 V, 毛细管电压 3500 V, 源温设定为 350℃, 帘幕气压为 40 psi。在 25℃ 的环境中, 在 Acquity UPLC BEH C18 柱(1.7 μ m, 2.1 mm $\times$ 5 mm)上实现色谱分离, 注入的体积为 5 μ L。用 MassLynx 软件 v 4.1 (Waters, Milford, MA, USA)获得酚类数据。其中对照、轻度机械损伤及重度机械损伤下位叶的样品 UPLC-MS 色谱图可见图 1。



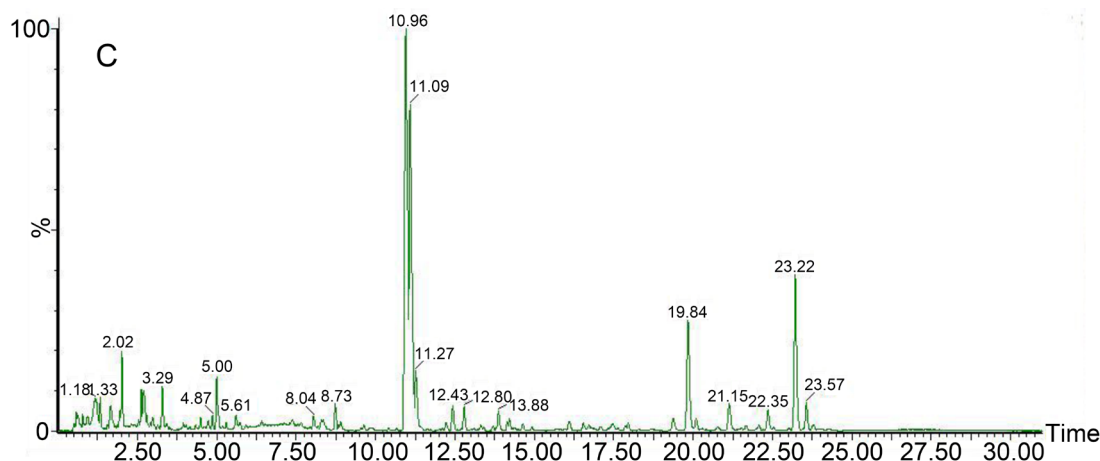


Figure 1. UPLC-MS chromatograms of lower leaf samples for each treatment. Note: A: Lower leaf sample of control group; B: Lower leaf sample of mild mechanical damage treatment group; C: Lower leaf sample of severe mechanical damage group

图 1. 各处理的下位叶样品 UPLC-MS 色谱图。注：A：对照组的下位叶样品；B：轻度机械损伤处理组的下位叶样品；C：重度机械损伤组的下位叶样品

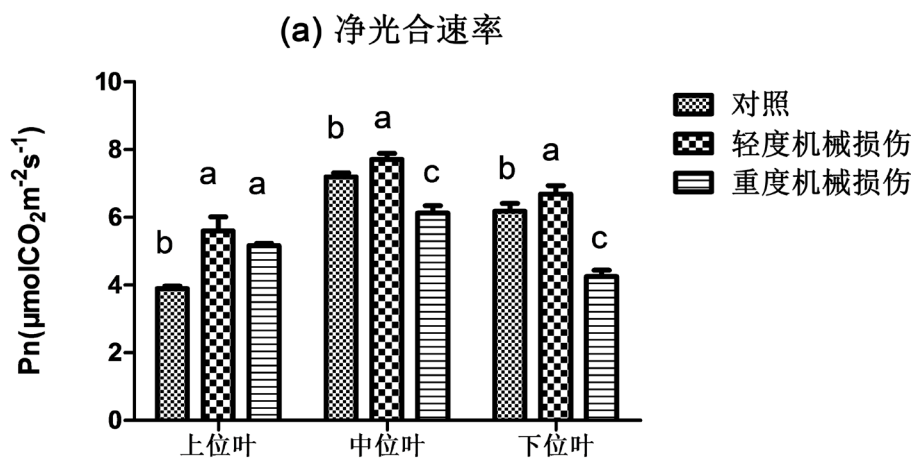
2.4. 数据处理和统计分析

使用 SPSS 17.0 软件(SPSS, Inc., Chicago, IL USA)进行数据的统计分析。结果表示为平均值(平均值±标准误差), 并且通过使用 $p < 0.05$ 概率水平的多范围检验(Duncan 检验)比较样品之间的差异。

3. 结果与分析

3.1. 不同机械损伤程度处理下杜仲叶片净光合速率、气孔导度、胞间 CO_2 浓度以及蒸腾速率的光响应情况

从图 2(a)可以看出, 不同程度机械损伤处理下, 杜仲中位叶的净光合速率都是最高。轻度机械损伤没有对杜仲叶片的净光合速率带来消极作用, 相反, 重度机械损伤使净光合速率有显著的下降。从图 2(b)可以看出, 除重度机械损伤对气孔导度有显著降低外, 轻度机械损伤对杜仲的气孔导度影响不大。胞间 CO_2 规律呈现出相似的规律(图 2(c))。并且轻度机械损伤与对照植物相比具有类似甚至较高的蒸腾速率(图 2(d))。表明轻度机械损伤的产生不影响杜仲植株正常的光合作用, 重度机械损伤使杜仲植株光合作用减低, 影响植株正常生理活动。



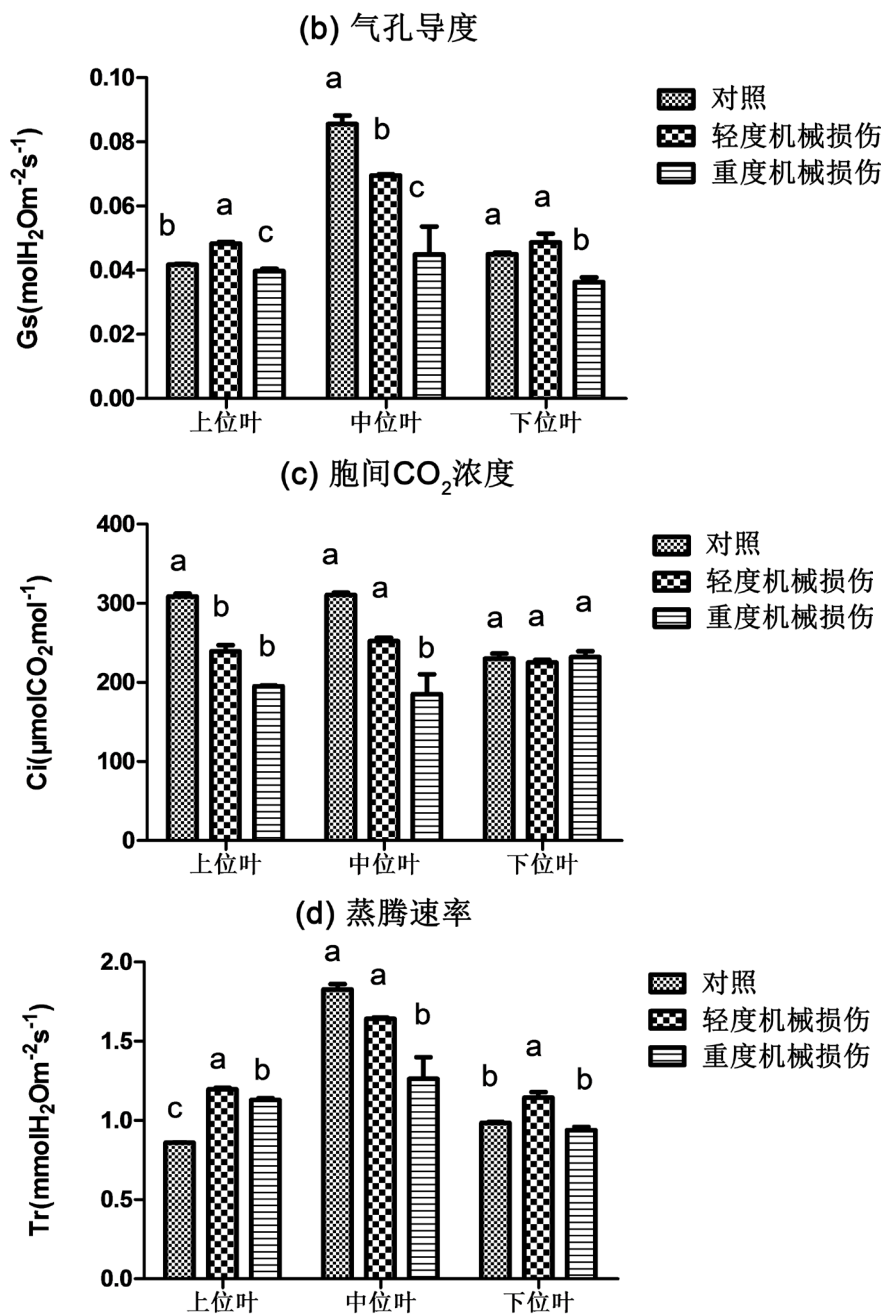


Figure 2. Photosynthetic parameters of *E. ulmoides* leaves at different levels of mechanical damage. Note: The error bars indicate standard deviation (the experiment was repeated 3 times), and the different letters (a, b, c) indicated above the error bars indicate statistically significant differences at $p < 0.05$ (Duncan test)

图 2. 不同程度机械损伤处理下杜仲叶片上、中、下叶位的光合参数情况。注：误差线表示标准偏差(实验进行了 3 次重复)，而误差线上方指示的不同字母(a, b, c)表示在 $p < 0.05$ 时具有统计学显著性差异(Duncan 检验)

3.2. 不同机械损伤程度处理对杜仲叶片酚类物质的影响

使用 LC-MS 共得到 21 种次级代谢物，包括苯丙氨酸和绿原酸，对香豆酸等酚类化合物。经过分层聚类分析可以看出，三种处理下杜仲样品的酚类化合物积累的模式大致分成四个聚类，说明经过不同程度机械损伤处理的杜仲次生代谢产物含量之间既存在相似性又存在一定的差异性。从图 3 可以看出，对

羟基肉桂酸, 对羟基苯甲酸, 对香豆酸和山奈酚这四种代谢物在机械损伤处理下, 所有组织部位中都有所增加。从热图可以看出大多数酚类代谢物主要在叶片中含量较高, 且叶位的不同对其含量没有显著变化。在机械损伤处理下, 绿原酸, 杨梅苷, 柚皮素, 槲皮素-3-O-鼠李糖苷, 芦丁和香草酸这六种酚类化合物的含量在杜仲叶片中有所积累。而丁香酸, 脱落酸, 咖啡酸, 木犀草素, 苯丙氨酸, 矮牵牛素, 金雀异黄素的变化趋势主要体现在根部, 这些化合物含量在进行机械损伤处理的植株根部比对照有明显的增加。相对于其他化合物, 阿魏酸、儿茶素、槲皮素在机械损伤条件下没有上调积累。

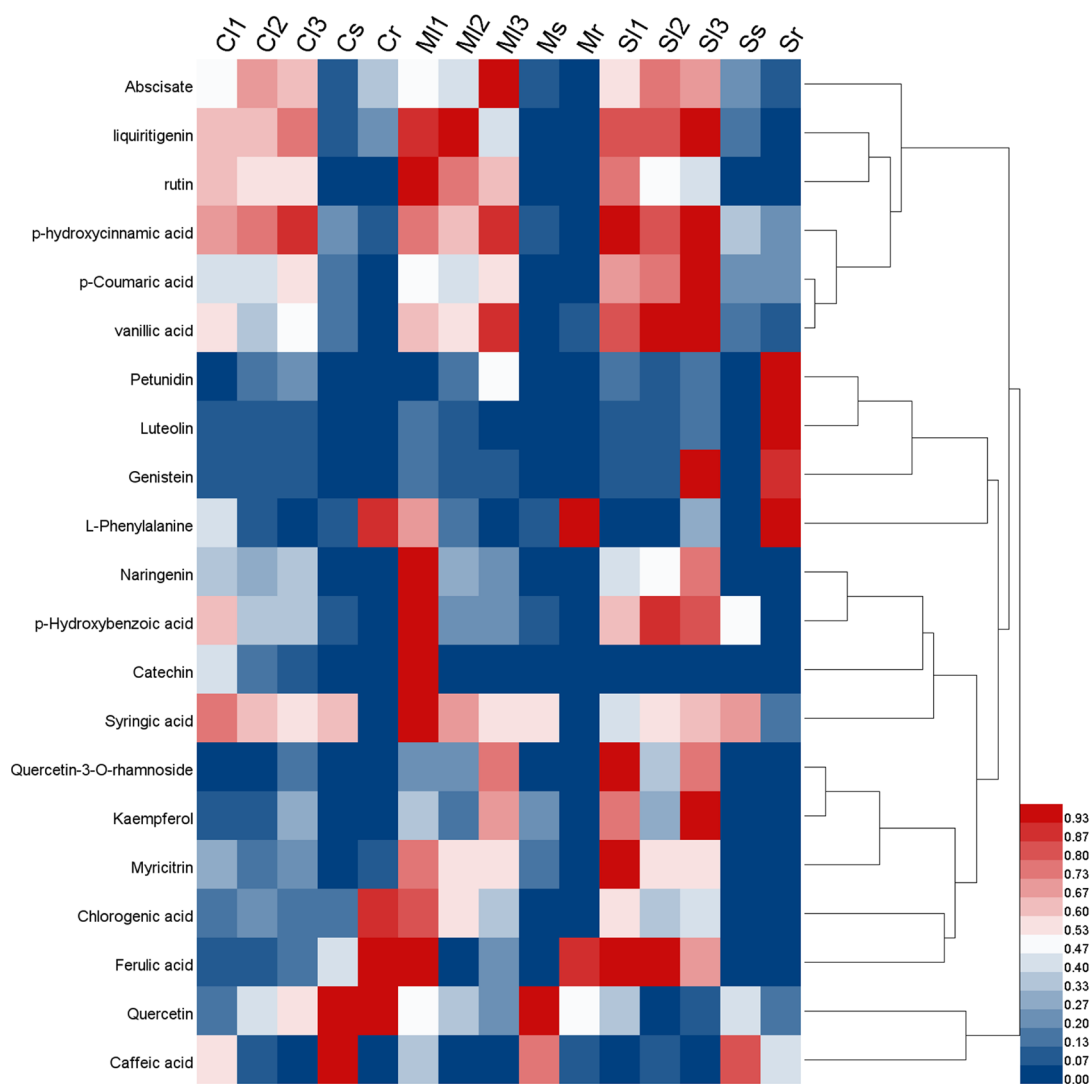


Figure 3. Effects of mechanical damage treatment on *E. ulmoides*. Note: C (control); M (mild mechanical injury); S (severe mechanical injury); l1 (upper leaf); l2 (median leaf); l3 (lower leaf); s (stem); r (root)

图 3. 不同程度机械损伤处理对杜仲酚类物质的影响。注: C (对照); M (轻度机械损伤); S (重度机械损伤); l1 (上位叶); l2 (中位叶); l3 (下位叶); s (茎); r (根)

经过显著性差异分析, 我们可以看出图 4 中的 8 种酚类化合物在杜仲叶片中特异性响应机械损伤。其中对香豆酸、杨梅苷和山奈酚在轻度机械损伤条件下, 在杜仲茎中也有少量积累。芦丁主要积极响应于轻度机械损伤, 而其他酚类化合物在轻度机械损伤情况下没有显著增加, 重度胁迫时开始积累。表明机械损伤可以提高杜仲植株的多种酚类化合物含量, 尤其在叶片中。

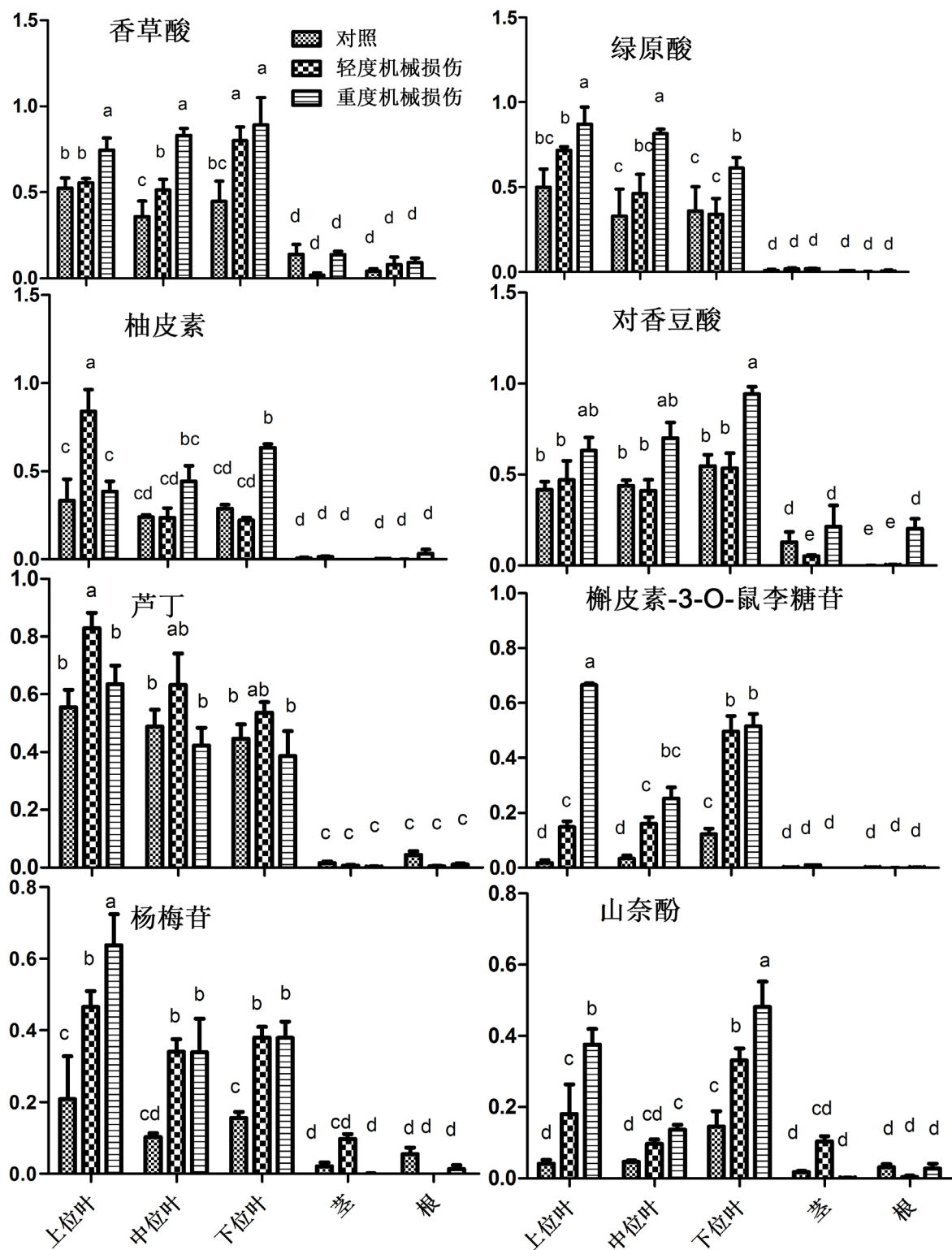


Figure 4. Variation trend of phenolic compounds that specifically respond to *E. ulmoides* leaves under different degrees of mechanical damage. Note: The error bars indicate standard deviation (the experiment was repeated 3 times), and the different letters (a, b, c) indicated above the error bars indicate statistically significant differences at $p < 0.05$ (Duncan test)

图 4. 不同程度机械损伤处理下特异性响应杜仲叶片的酚类化合物变化趋势。注：误差线表示标准偏差(实验进行了 3 次重复)，而误差线上方指示的不同字母(a, b, c)表示在 $p < 0.05$ 时具有统计学显著性差异(Duncan 检验)

4. 结果与讨论

光合作用是植物体内唯一的碳素来源,植物在适应不同生长环境时表现出不同的光合生理机能,光合参数是植物适应环境的直接表现[23]。较强的光合能力是经济产量的物质基础,也是植物积累有效物质的前提[24]。光合作用受到植物所处外界环境变化或自身遭受胁迫的影响,因此植物在非生物胁迫后是否处于正常生长状态,可以通过光合参数情况进行评价[25]。光合速率(Pn)是植物重要的光合参数之一,在光合作用的过程中,可以直接反应植物在目前光环境中有机物合成情况。由于重度机械损伤情况下叶片气孔的关闭或减小严重阻碍环境 CO₂ 从叶片外向叶绿体内的羧化部位有效扩散,导致胞间 CO₂ 浓度(Ci)下降,已经引起中位叶和下位叶中净光合速率显著降低。而轻度机械对杜仲植株的光合作用影响不大,说明植物的生理特性还没有遭到更多破坏。杜仲叶的产量、药用成分含量以及质量是叶用杜仲选育的重要指标,净光合速率作为重要光合参数是衡量植物生长状态的有效因素[26]。光合特性的研究为杜仲对机械损伤应激提供了一定的生理参考依据。

在植物栽培繁育的过程中,昆虫啃食或较大型食草动物的危害以及人工进行的嫁接、环剥、剪叶等技术都会给正常生长的植物造成机械损伤。植物进化出多种机制来保护自己免受广泛的攻击。例如,在伤口修复过程中包括局部和全身位置,以防止感染的渗透。植物受到昆虫取食或损伤后,不仅被害部位产生防御反应,且在机体其他未被损害部位也发生系统变化[27]。化合物的生物合成是一种常见的防御策略,主要是由干扰因子引发的次生代谢产物。次生代谢物被认为是专门为适应环境压力而进行的生物合成。它们是由代谢途径产生的,对激素、应激和生长等调节的不同条件表现出不同的趋向性[28]。植物通过次生代谢途径产生大量挥发性有机化合物、单宁以及酚酸等重要的化学防御物质,增加植物的防御能力,对外界刺激做出响应[29]。具体化学防御物质主要通过苯丙氨酸合成反式肉桂酸参与苯丙烷代谢,继续合成香豆酸、阿魏酸、芥子酸等一系列中间产物,这些有机酸转化为较为复杂的香豆素、绿原酸,CoA酯等,再进一步合成为下游的类黄酮、木质素等次生代谢产物[30]。这些次生物质在植物抗逆境、抗病害上有非常重要的作用[31]。在之前的研究中表明,轻度机械损伤可以诱导冷蒿枝叶和根系中 PPO、PAL 和抗氧化酶迅速做出响应,活性显著升高;随着机械损伤强度增加,冷蒿枝叶咖啡酸、丁香酸、阿魏酸和肉桂酸含量显著增加,且叶片中酚类化合物含量显著高于根部[32]。在本研究结果中,杜仲植株机械损伤后,诱导体内 21 种酚类化合物发生变化,尤其在叶片中绿原酸、香草酸、对香豆酸、柚皮素、芦丁、槲皮素-3-O 鼠李糖苷、杨梅苷、山奈酚这 8 种酚类化合物的含量迅速增加,特异性响应叶片的机械损伤处理,说明这几种酚类物质可能是杜仲叶片的重要防御物质。绿原酸是杜仲主要的有效活性成分之一,具有神经保护作用等显著功效,2005 年《中国药典》将绿原酸含量作为杜仲叶生药的主要有效活性成分和质量控制的标准。机械损伤引起杜仲叶片中绿原酸的特异性增加,对杜仲叶品药用价值的提高具有重要意义。

5. 结论

本研究分析了不同程度机械损伤处理对茶用杜仲叶片光合生理作用的影响,以及酚类代谢物的积极调控,揭示了杜仲叶片应激机械损伤的防御反应特点。轻度机械损伤不影响杜仲的正常光合作用,重度机械损伤对其有一定的影响。机械损伤下多种酚类化合物在杜仲不同组织部位中积累模式发生显著改变。绿原酸、香草酸等酚类化合物可能是杜仲叶片应对机械损伤的重要防御物质。这将为培育高质量茶用杜仲叶片,积累叶片活性成分,提高杜仲茶保健价值提供科学合理的理论依据。

基金项目

林业公益性行业科研专项(201504701-2)。

参考文献

- [1] He, X., Wang, J., Li, M., Hao, D., Yang, Y., Zhang, C., He, R. and Tao, R. (2014) *Eucommia ulmoides* Oliv.: Ethnopharmacology, Phytochemistry and Pharmacology of an Important Traditional Chinese Medicine. *Journal of Ethnopharmacology*, **151**, 78-92. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2013.11.023>
- [2] 张前程. 杜仲叶中活性成分的积累规律及其提取物的制备[D]: [硕士学位论文]. 开封: 河南大学, 2015.
- [3] 杨芳. 杜仲叶的化学成分研究[D]: [硕士学位论文]. 咸阳: 陕西中医药大学, 2014.
- [4] Hirata, T., Kobayashi, T., Wada, A., *et al.* (2011) Anti-Obesity Compounds in Green Leaves of *Eucommia ulmoides*. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, **21**, 1786-1791. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2011.01.060>
- [5] 项丽玲, 温亚娟, 苗明三. 杜仲叶的化学、药理及临床应用分析[J]. 中医学报, 2017, 32(1): 99-102.
- [6] 孙建琴, 詹国瑛. 杜仲叶饮料的营养卫生学研究和毒理学评价[C]//中国营养学会第二届营养资源学术会议论文汇编. 上海: 中国营养学会第二届营养资源学术会议, 1989.
- [7] 袁云香. 杜仲在食品加工中的应用[J]. 北方园艺, 2013(2): 188-190.
- [8] Margarita, G.-C., Teresa, P.-F., Anna, M., *et al.* (2015) Modulation of Phenolic Metabolism under Stress Conditions in a *Lotus Japonicus* Mutant Lacking Plastidic Glutamine Synthetase. *Frontiers in Plant Science*, **6**, 760. <https://doi.org/10.3389/fpls.2015.00760>
- [9] Liu, J., Liu, Y., Wang, Y., *et al.* (2016) The Combined Effects of Ethylene and MeJA on Metabolic Profiling of Phenolic Compounds in *Catharanthus roseus* Revealed by Metabolomics Analysis. *Frontiers in Physiology*, **7**, 217. <https://doi.org/10.3389/fphys.2016.00217>
- [10] Abaza, L., Taamalli, A., Nsir, H., *et al.* (2015) Olive Tree (*Olea europaea* L.) Leaves: Importance and Advances in the Analysis of Phenolic Compounds. *Antioxidants*, **4**, 682-698. <https://doi.org/10.3390/antiox4040682>
- [11] Quideau, S., Deffieux, D., Douat-Casassus, C., *et al.* (2011) Plant Polyphenols: Chemical Properties, Biological Activities, and Synthesis. *Angewandte Chemie International Edition*, **50**, 586-621. <https://doi.org/10.1002/anie.201000044>
- [12] Horniblow, R.D., Henesy, D., Iqbal, T.H., *et al.* (2017) Modulation of Iron Transport, Metabolism and Reactive Oxygen Status by Quercetin-Iron Complexes *in Vitro*. *Molecular Nutrition & Food Research*, **61**, Article ID: 1600692.
- [13] Tomczyk, M., Borowska, S. and Brzóska, M.M. (2016) Antioxidants as a Potential Preventive and Therapeutic Strategy for Cadmium. *Current Drug Targets*, **17**, 1350-1384. <https://doi.org/10.2174/1389450116666150506114336>
- [14] 方海涛, 段立清. 机械损伤诱导林木抗虫性研究进展[J]. 西北林学院学报, 2011, 26(6): 91-94.
- [15] Bohlmann, J., Crock, J., Jetter, R., *et al.* (1998) Terpenoid-Based Defenses in Conifers: cDNA Cloning, Characterization, and Functional Expression of Wound-Inducible (E)- α -Bisabolene Synthase from Grand Fir (*Abies grandis*). *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **95**, 6756-6761. <https://doi.org/10.1073/pnas.95.12.6756>
- [16] Brandolini, A., Castoldi, P., Plizzari, L., *et al.* (2013) Phenolic Acids Composition, Total Polyphenols Content and Antioxidant Activity of *Triticum monococcum*, *Triticum turgidum* and *Triticum aestivum*: A Two-Years Evaluation. *Journal of Cereal Science*, **58**, 123-131. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2013.03.011>
- [17] Chaman, M.E., Copaja, S.V. and Argandoña, V.H. (2003) Relationships between Salicylic Acid Content, Phenylalanine Ammonia-Lyase (PAL) Activity, and Resistance of Barley to Aphid Infestation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **51**, 2227-2231. <https://doi.org/10.1021/jf020953b>
- [18] Koussevitzky, S. and Harel, E.N. (2004) Import of Polyphenol Oxidase by Chloroplasts Is Enhanced by Methyl Jasmonate. *Planta*, **219**, 412-419. <https://doi.org/10.1007/s00425-004-1240-7>
- [19] Gogoi, R., Singh, D.V. and Srivastava, K.D. (2001) Phenols as a Biochemical Basis of Resistance in Wheat against Karnal Bunt. *Plant Pathology*, **50**, 470-476. <https://doi.org/10.1046/j.1365-3059.2001.00583.x>
- [20] 严善春, 袁红娥, 王琪, 等. 叶损伤诱导兴安落叶松针叶中 10 种酚酸的变化[J]. 应用生态学报, 2010, 21(4): 196-202.
- [21] 吴琼. 机械损伤对茶树苯丙氨酸解氨酶活性及茶多酚含量的影响[J]. 安徽农业科学, 2016, 44(5): 11-14.
- [22] 范庆红, 马建华. 杜仲平茬试验[J]. 安徽林业科技, 1999(2): 12-13.
- [23] Génard, M., Baret, F. and Simon, D. (2000) A 3D Peach Canopy Model Used to Evaluate the Effect of Tree Architecture and Density on Photosynthesis at a Range of Scales. *Ecological Modelling*, **128**, 197-209. [https://doi.org/10.1016/S0304-3800\(99\)00232-X](https://doi.org/10.1016/S0304-3800(99)00232-X)
- [24] 张国显, 范永怀, 赵凤艳, 等. 化肥减量配施有机物料对设施番茄生长、光合特性、产量及品质的影响[J]. 中国科技论文, 2018, 13(6): 698-703.

-
- [25] Posada, J.M., Lechowicz, M.J. and Kitajima, K. (2009) Optimal Photosynthetic Use of Light by Tropical Tree Crowns Achieved by Adjustment of Individual Leaf Angles and Nitrogen Content. *Annals of Botany*, **103**, 795-805. <https://doi.org/10.1093/aob/mcn265>
- [26] 晏巢, 王森, 邵凤侠. 南方鲜食枣木质化与非木质化枣吊叶片光合效率的比较[J]. 经济林研究, 2013, 31(2): 113-117.
- [27] Oriens, C. (2005) Herbivores, Vascular Pathways, and Systemic Induction: Facts and Artifacts. *Journal of Chemical Ecology*, **31**, 2231-2242. <https://doi.org/10.1007/s10886-005-7099-7>
- [28] Chen, Q., Lu, X., Guo, X., *et al.* (2018) The Specific Responses to Mechanical Wound in Leaves and Roots of *Catharanthus roseus* Seedlings by Metabolomics. *Journal of Plant Interactions*, **13**, 450-460.
- [29] 马仁萍. 杜仲花粉初生代谢物与次生代谢物的研究[D]: [硕士学位论文]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2008.
- [30] 贺立红, 张进标, 宾金华. 苯丙氨酸解氨酶的研究进展[J]. 食品科技, 2006, 31(7): 31-34.
- [31] 刘卫红, 程水源. 光照及机械损伤对银杏叶苯丙氨酸解氨酶活性的影响[J]. 湖北农业科学, 2003(3): 73-75.
- [32] 刘盟盟, 贾丽, 程路芸, 张洪芹, 臧晓琳, 宝音陶格涛, 张汝民, 高岩. 冷蒿酚酸及其抗氧化防御酶活性对机械损伤的响应[J]. 植物生态学报, 2017, 41(2): 219-230.